



日龄和交配状态对二化螟雄蛾内生殖器特征的影响

郭前爽¹, 王春荣², 宋显东², 冯 波³, 陈庆华⁴, 杜永均^{1,*}

(1. 浙江大学农药与环境毒理研究所, 杭州 310058; 2. 黑龙江省植检植保站, 哈尔滨 150090;
3. 温州医科大学健康与环境生态研究所, 浙江温州 325035; 4. 四川省农业科学院植物保护研究所,
农业部西南作物有害生物综合治理重点实验室, 成都 610066)

摘要:【目的】性信息素群集诱杀应用于二化螟 *Chilo suppressalis* 测报和防治。本研究旨在明确性信息素群集诱杀二化螟的机理及诱集雄蛾的交配状态。【方法】利用行为学和生殖器解剖技术, 研究不同日龄和交配状态二化螟雄蛾内生殖器特征, 并将其与田间性信息素诱集获得的雄蛾进行比较。【结果】二化螟雄蛾单射精管非角质化区可分为 7 段; 生殖器内含物主要为白色, 紧实程度可以分为 5 级(0–4 级), 存在充满和未充满生殖器两种状态。随着日龄增加, 雄蛾附腺以及第 3 和 4 段非角质化区内含物等级降低, 第 5 和 7 段非角质化区内含物未充满比例升高, 内含物为白色的比例下降。交配后 1 h 之内二化螟雄蛾第 5 和 7 段非角质化区和复射精管内含物等级显著低于未交配雄蛾, 而第 1–4 段非角质化区内含物等级显著高于未交配雄蛾。交配后 24 h, 所有内含物等级和未交配雄蛾无显著差异; 交配后 36 h, 第 5 和 7 段非角质化区内含物未充满比例高于未交配雄蛾。性信息素诱集和未诱集雄蛾生殖器内含物等级无显著差异。田间性信息素诱集雄蛾附腺端半部内含物等级显著高于 2–6 日龄未交配二化螟, 第 3 和 4 段非角质化区内含物等级显著低于刚羽化(0 日龄)雄蛾。【结论】本研究结果表明, 利用生殖器内含物特征可以区别交配后 12 h 内的已交配和未交配二化螟雄蛾, 性信息素群集诱杀的可能大部分是羽化 1 d 的未交配雄蛾。本研究结果为二化螟雄蛾交配状态判定和蛾类害虫性信息素测报和防治的有效性提供了一定依据。

关键词: 二化螟; 雄性生殖系统; 年龄; 交配状态; 性信息素; 群集诱杀

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2019)07-0838-11

Effects of age and mating status on the characteristics of internal genital organs of male adults of the striped rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae)

GUO Qian-Shuang¹, WANG Chun-Rong², SONG Xian-Dong², FENG Bo³, CHEN Qing-Hua⁴, DU Yong-Jun^{1,*} (1. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Heilongjiang Provincial Plant Protection and Quarantine Station, Harbin 150090, China; 3. Institute of Health and Environmental Ecology, Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China; 4. Key Laboratory of Integrated Management of Crop Pests in Southwest China, Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

Abstract: 【Aim】Trapping by sex pheromone has been used as an effective tool to monitor and control the striped rice stem borer, *Chilo suppressalis*, an important rice pest. This study aims to clarify the mechanism of sex pheromone trapping and the mating status of trapped male moths of *C. suppressalis*.

【Methods】The characteristics of internal genital organs of male adults of *C. suppressalis* at different age

(day-old) and in different mating statuses were studied with behavioral bioassay and genital anatomy and compared with those of male adults captured with sex pheromone lure in the field. 【Results】 The primary segment of single ejaculatory duct of male moth of *C. suppressalis* could be divided into seven segments. The genital contents in the genital duct were mostly white and could be grouped into five grades (grade 0–4) according to the compactness, with two statuses of the genital duct fully and not fully filled with contents. With the increase of the age (day-old), the grades of genital contents in accessory glands and segments 3 and 4 of ejaculatory duct decreased. The proportion of unfulfilled duct in segments 5 and 7 and the grade of contents in segments 5 and 7 increased. The grades of contents in segments 5 and 7 and in the double ejaculatory duct were significantly lower in the newly mated male moths than those in the unmated individuals of the same age, while the grades of contents in segments 1–4 of the newly mated males were significantly higher than those of the unmated individuals within 1 h after mating. At 24 h after mating, there was no significant difference in the grade of contents between mated and unmated individuals. At 36 h after mating, the proportion of unfulfilled duct in segments 5 and 7 of the mated moths was higher than that of the unmated individuals. However, the response to sex pheromones did not significantly affect the contents in the genital duct. The grades of contents in the terminal half part of accessory gland of male moths trapped by sex pheromone from the field were significantly higher than those of the unmated moths of the 2–6-day-old, while these of segments 3 and 4 of male moths trapped by sex pheromone from the field significantly lower than those of the newly emerged (0-day-old) male moths. 【Conclusion】 The results show that the characteristics of genital contents can be used to distinguish the mated and unmated individuals of *C. suppressalis* within 12 h after mating. Sex pheromone trapping can attract a large number of 1-day-old unmated male moths and is an effective measure for the control of *C. suppressalis*. Our results lay a theoretical foundation for the determination of mating status of male moths of *C. suppressalis* and for pest monitoring and control by pheromone trapping.

Key words: *Chilo suppressalis*; male reproductive system; age; mating status; sex pheromone; mass trapping

蛾类昆虫雌雄蛾交配时,雄蛾通过在雌蛾体内形成精包而完成交配,每次交配只能形成一个精包,可以通过解剖观察雌蛾体内是否存在精包来判定雌蛾的交配状态,或者通过雌蛾体内精包的数量来确定雌蛾的交配次数(LaMunyon and Eisner, 1994; Hou and Sheng, 1999)。在交配过程中,储精囊和复射精管内储存的精子通过单射精管进入雌蛾体内(Spurgeon *et al.*, 1994),附腺分泌精液,保证精子达到雌蛾受精囊前有足够的营养和合适的环境(Baker *et al.*, 2003),单射精管内含物则参与了精包形成(Fänger and Naumann, 1993),因此可以利用射精管内含物的颜色来判定雄蛾的交配状态(Spurgeon *et al.*, 1994; 周娇等, 2012; Zhang *et al.*, 2017)。利用射精管内含物颜色判定雄蛾交配状态是否存在时效性问题,目前还不清楚。很多雌蛾体内的卵在羽化后才开始发育,随着雌蛾日龄的不同,体内的卵表现出不同的形态,可以通过解剖观察体内卵巢的形态确定雌蛾的生理状态(王丽平等, 2015)。同时,

迁飞性的稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 雌蛾卵巢等级和田间性信息素诱集雄蛾数量之间存在相关性,因此利用卵巢的发育等级可以预测害虫的发生动态(冯波等, 2017)。也有学者研究了羽化日龄对欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Hu and Andow, 2009)和梨小食心虫 *Grapholita molesta* (Zhang *et al.*, 2017)雄性生殖系统的影响,但是日龄是否会同样对其他雄蛾生殖系统产生影响,目前还不清楚。二化螟 *Chilo suppressalis* 是我国水稻的重要害虫,为了解决化学农药防治带来的环境污染和二化螟抗药性快速上升问题,基于性信息素的害虫防治技术已经在防治二化螟过程中发挥重要作用(Jiao *et al.*, 2006; 左文等, 2008; 杜永均等, 2013)。二化螟雄蛾存在多次交配(焦晓国等, 2006),有学者研究了二化螟雄蛾的生殖系统(宋俊元等, 2012)和交配对二化螟雄蛾单射精管的影响(Hu *et al.*, 2018),但是这些研究并不全面、系统。为此,本研究观察了不同日龄和不同交配状态二化螟雄蛾内生生殖器特征,比

较了雄蛾生殖系统在交配后不同时间的恢复状态,并将田间性信息素诱集二化螟雄蛾内生生殖系统进行比较,从而明确日龄、交配状态和交配后时间对二化螟雄蛾内生生殖系统的影响,为性信息素诱捕测报和防治二化螟提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试虫

2018 年 3 月在浙江省温州市瑞安市塘下镇采集越冬代二化螟老熟幼虫并带回温州医科大学健康与环境生态研究所人工气候室进行饲养。饲养温度为 $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度为 $70\% \pm 5\%$, 光周期为 14L:10D (19:00 时开始) (雷妍圆等, 2009)。幼虫化蛹后, 在显微镜下根据蛹生殖孔的有无进行雌雄蛹鉴别, 并将雌、雄蛹分别放入羽化笼中。每天 9:00 时收集羽化的二化螟成虫, 并根据成虫体型、翅面和腹部末端特征再次鉴别二化螟雌雄。雌雄成虫分开饲养, 喂以 10% 蜂蜜水, 每天 18:00 时饲喂一次。

1.2 二化螟雌雄蛾生殖系统解剖

将二化螟蛾体背面向上, 从基部取下腹部, 放入 75% 酒精中, 利用镊子从腹基部开始, 小心地将腹部各节的背板和腹板去掉, 这样整个生殖器官可以完整地暴露在外。对于雄蛾而言, 去掉雄蛾的消化系统并小心地剔除生殖器表面的脂肪体, 得到完整的雄蛾内生生殖系统。对于雌蛾而言, 找到雌蛾的交配囊, 确定其内含有的精包数量。雄蛾内生生殖系统解剖完成后, 摆好各部位的姿势, 利用 Motic 显微照相系统进行拍照。雄蛾生殖器内含物等级参考已发表欧洲玉米螟 (Hu and Andow, 2009) 和二化螟 (Hu *et al.*, 2018) 的分类方法进行划分。

1.3 不同日龄未交配二化螟雄蛾内生生殖系统比较及田间性信息素诱集二化螟雄蛾的生殖器内含物特点

由于 9:00 时收集的二化螟成虫均为前一晚羽化 (孙丽娟等, 2002), 因此标记为羽化后 1 d, 其余羽化日龄以此类推。羽化后 0 d 二化螟则通过以下方法获得: 9:00 时将前一晚羽化的二化螟成虫收集干净后, 在当天 21:00 时再次收集新羽化的二化螟成虫, 并标记为羽化后 0 d。选择羽化后 0–6 d 的未交配雄蛾, 在 20:00–22:00 时按照方法 1.2 节解剖雄蛾生殖系统, 每日龄各解剖雄蛾 10~17 头, 并进行拍照比较。

田间性信息素诱集二化螟试验于 2018 年 3 月

至 2018 年 4 月在浙江省温州市瓯海区稻田进行。选择水稻长势较均匀、日常管理基本一致的 3 个试验点, 各试验点间距大于 1 km。每个试验点设置 3 个诱捕器, 每个诱捕器安装 1 枚诱芯, 各诱捕器间距 30 m 以上。诱捕器悬挂高度为 50 cm。试验用的二化螟性信息素 PVC 毛细管诱芯 (农药登记证号 LS20150334) 和新型飞蛾诱捕器都由宁波纽康生物技术有限公司提供。在每日 6:00–8:00 时, 将诱捕器中诱集的二化螟雄蛾带回实验室进行解剖, 本实验共解剖 27 头田间性诱二化螟雄蛾。

1.4 交配对二化螟雄蛾生殖器内含物的影响

18:00 时将当日 9:00 时收集的新羽化二化螟雌雄蛾按 8:8 比例放入交配笼 (长 $\times$ 宽 $\times$ 高 = $30\text{ cm} \times 30\text{ cm} \times 30\text{ cm}$) 中, 从 19:00 时开始, 每隔 20 min 检查一次二化螟的交配情况, 发现二化螟交配时, 将正在交配的二化螟雌雄个体移入新的一次性塑料杯中, 记录交配时间。交配结束后, 按照交配后 0, 12, 24, 36 和 48 h 分别解剖 6~11 头雄蛾生殖系统, 同时解剖与之交配的雌蛾交配囊, 检查精包数量, 确定雌雄是否成功交配。在解剖交配雄蛾时, 解剖相同数量的同日羽化的未交配雄蛾作为对照。

1.5 性反应对二化螟雄蛾生殖器内含物的影响

在网室 (长 $\times$ 宽 $\times$ 高 = $3\text{ m} \times 3\text{ m} \times 2\text{ m}$) 的正中心悬挂一个二化螟性信息素诱捕器。21:00 时将当日羽化的 50 头二化螟雄蛾放入网室中, 次日 8:00 时, 将诱捕器中诱集到的二化螟雄蛾 10 头取出进行解剖, 同时解剖相同数量的在网壁上停留不动的二化螟雄蛾作为对照。

1.6 数据分析

数据分析采用软件 SPSS 17.0。两组平均数间的差异显著性分析采用 Student 氏 *t* 检验法, 多组平均数间的差异显著性分析则采用 One-way ANOVA 中的 LSD 法 (least significant difference)。

2 结果

2.1 二化螟雄蛾内生生殖系统组成

二化螟雄蛾内生生殖系统由一个精巢 (testis, T)、一对输精管 (vas deferens, VD)、一对附腺 (accessory glands, AG)、一对复射精管 (ductus ejaculatorius duplexes, DED) 和一条单射精管 (ductus ejaculatorius simplex) 组成 (图 1)。精巢近圆球形, 淡黄色。输精管端部与精巢相连, 基部与复射精管相连, 中部膨大为储精囊 (vesiculae

seminales, VS)。复射精管一端与单射精管基部相连,另一端与附腺基部相连。附腺较长,约为射精管长度的 1/2,两条附腺基部 2/3 相互合并,端部彼此分离。单射精管端部与外生殖器的中茎相连。根据

体壁是否角质化将单射精管分为角质化区 (cuticular segment, CS) 和非角质化区 (primary segment, PS)。根据单射精管非角质化区上的缢缩和内含物,可以将单射精管非角质化区分为 7 段 (PS1 - 7) (图 1)。

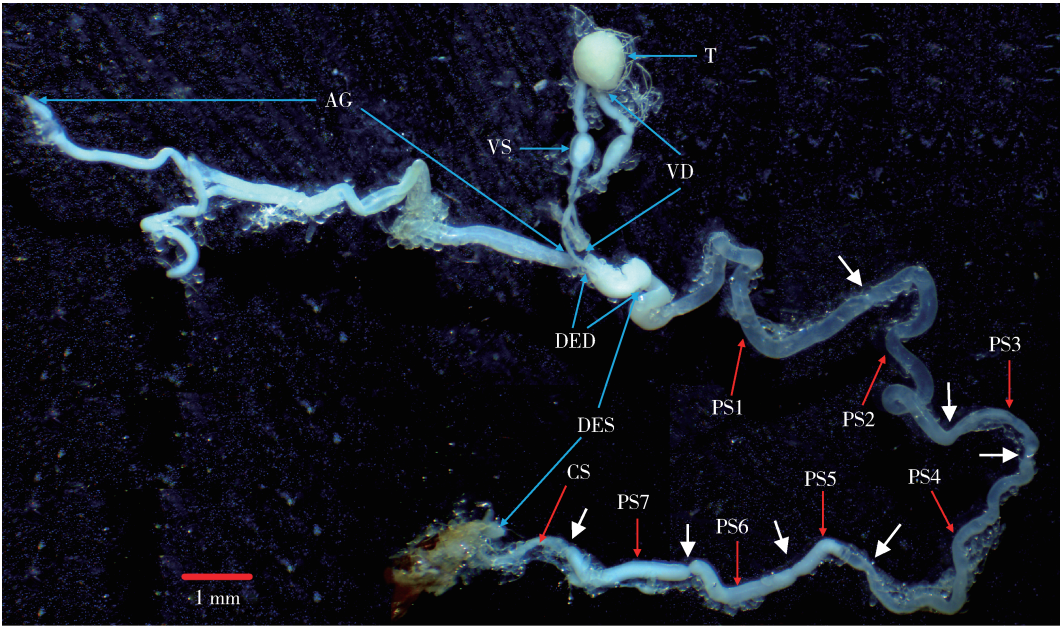


图 1 二化螟雄蛾内生生殖系统

Fig. 1 Internal reproductive system of male moths of *Chilo suppressalis*

以输精管和复射精管的连接点为中心,远离该点为端部,靠近该点为基部 The junction of vas deferens and ductus ejaculatorius duplexes was used as the center, the far part from the junction as the terminal end and the near part from the junction as the base. 蓝色箭头分别表示精巢(T)、输精管 (VD)、储精囊(VS)、附腺(AG)、复射精管(DED)和单射精管(DES);红色箭头表示单射精管组成,包括角质化区(CS)和非角质化区(PS);白色箭头表示单射精管非角质化区上的 7 个缢缩,将非角质化区分为 7 段 (PS1 - 7)。The blue arrows indicate testis (T), vas deferens (VD), vesiculae seminales (VS), accessory glands (AG), ductus ejaculatorius duplexes (DED) and ductus ejaculatorius simplex (DES). The red arrows point to different segments of single ejaculatory duct, including cuticular segment (CS) and primary segment (PS). The white arrows indicate seven constrictions in the primary segment of ductus ejaculatorius simplex, which divide the primary segment into seven segments (PS1 - 7).

2.2 二化螟雄蛾生殖器内含物等级、充满程度和颜色

输精管、附腺、复射精管、单射精管均由管壁和内含物组成。根据内含物的疏密程度,可以将其分为 5 级,0 级内含物几乎完全透明,1 级内含物半透明,2 级内含物不透明,3 级内含物淡白色,4 级内含物乳白色 (图 2)。

0 日龄雄蛾内生生殖器不同部位的内含物等级存在差异 (图 3)。储精囊、复射精管和第 7 段非角质化区内含物等级最高,为 4 级;第 5 段非角质化区内含物等级接近 4 级 (3.91 ± 0.09)。输精管和附腺内含物次之,为 3 级,其中附腺基半部内含物等级 (3.27 ± 0.14) 稍低于端半部 (3.36 ± 0.15)。第 3, 4 和 6 段非角质化区内含物等级相似,分别为 2.18 ± 0.23 , 2.36 ± 0.2 和 2.64 ± 0.31 。第 1 段非角质化

区基部内含物等级 (2.36 ± 0.28) 显著高于其余部分 (1.09 ± 0.09) ($P \leq 0.001$)。而第 2 段非角质化区端部内含物等级 (2.18 ± 0.23) 显著高于其余部分 (1.09 ± 0.09) ($P \leq 0.001$)。

绝大部分 0 日龄雄蛾生殖器内含物为白色,极少部分个体第 5 - 7 段非角质化区内含物为淡黄色 (图 4)。

当内含物等级为 4 级时,内含物存在充满和未充满内生生殖器两种情况。储精囊和复射精管的内含物均为未充满状态。第 5 和 7 段非角质化区内含物则存在充满和未充满两种状态 (图 5)。

2.3 不同日龄未交配二化螟雄蛾生殖器内含物等级比较及田间性信息素诱集二化螟雄蛾生殖器内含物特点

日龄对附腺及第 3 和 4 段非角质化区内含物等

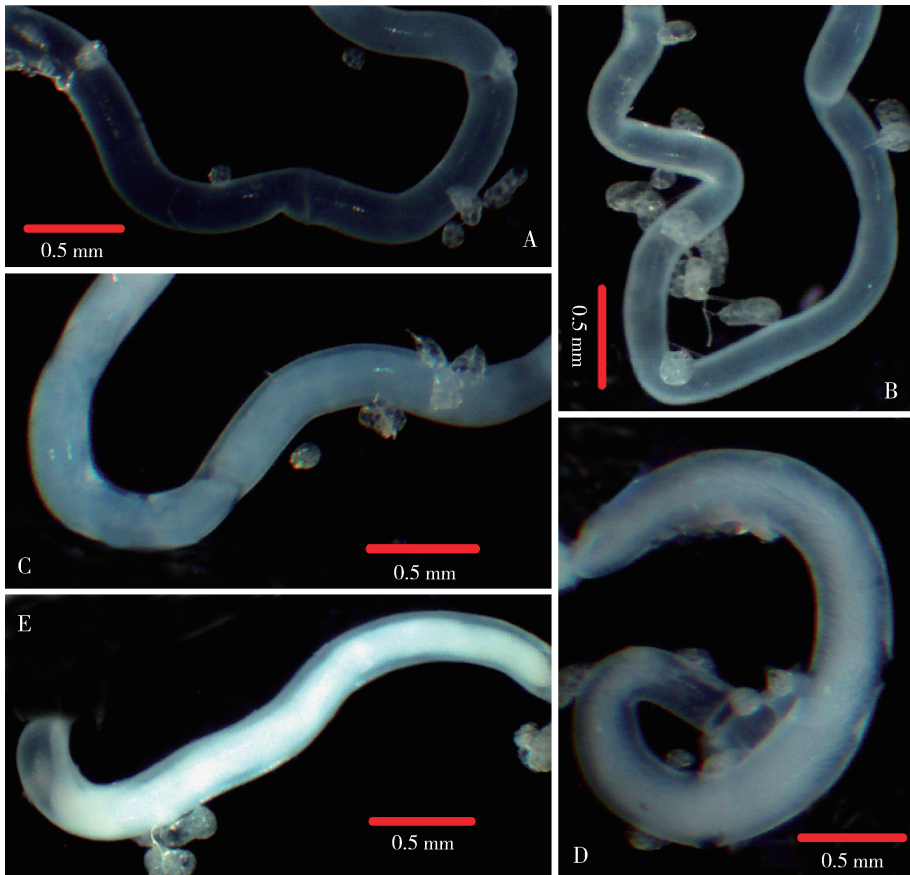


图 2 二化螟雄性生殖器内含物分级

Fig. 2 Grading of genital contents in the genital duct of male moth of *Chilo suppressalis*

A: 0 级, 内含物几乎完全透明 Grade 0, contents transparent; B: 1 级, 内含物半透明 Grade 1, contents semi-transparent; C: 2 级, 内含物不透明 Grade 2, contents non-transparent; D: 3 级, 内含物淡白色 Grade 3, contents white; E: 4 级, 内含物乳白色 Grade 4, contents milk white. 下图同 The same for the following figures.

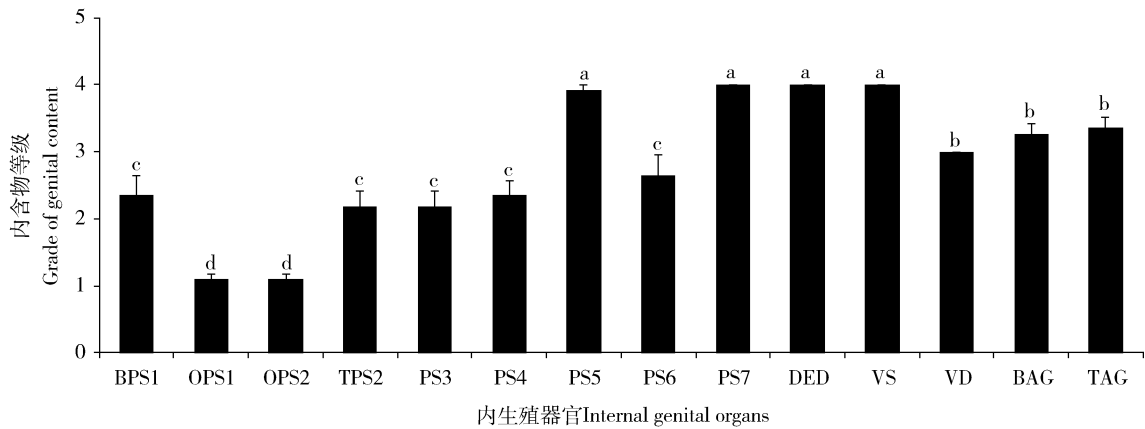


图 3 刚羽化(0 日龄)二化螟雄蛾内生生殖器不同部位内含物等级比较

Fig. 3 Comparison of the grades of contents in different parts of internal genital organs of the newly emerged (0-day-old) male moths of *Chilo suppressalis*

BAG: 附腺(AG)基半部 Basal half part of accessory glands(AG); BPS1: 第 1 段非角质化区基部 Basal part of primary segment 1; DED: 复射精管 Ductus ejaculatorius duplexes; OPS1: 第 1 段非角质化区其余部 The other parts of primary segment 1; OPS2: 第 2 段非角质化区其余部 The other parts of primary segment 2; PS3-7: 分别为第 3-7 段非角质化区 Primary segments 3-7, respectively; TAG: 附腺端半部 Terminal half part of accessory glands; TPS2: 第 2 段非角质化区端部 Terminal part of primary segment 2; VD: 输精管 Vas deferens; VS: 储精囊 Vesiculae seminales. 图 7 和 8 同 The same for Figs. 7 and 8. 柱上不同字母表示不同部位内含物等级差异显著 ($P < 0.05$), 采用 LSD 法进行显著性分析。Different letters above bars indicate significant difference in the grade of contents among different genital parts by LSD method.

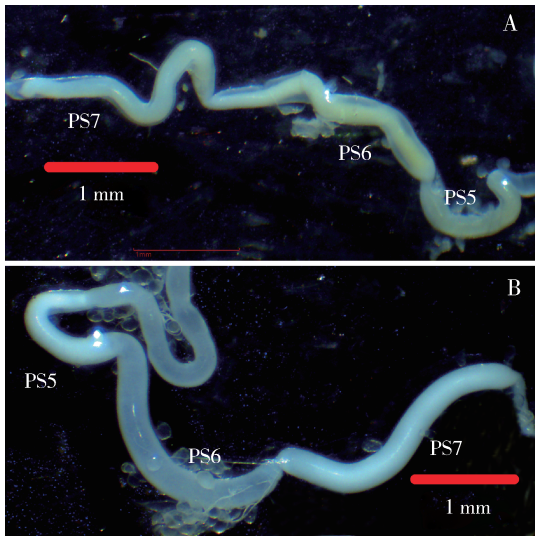


图 4 二化螟雄蛾生殖器内含物颜色

Fig. 4 Color of genital contents in male moths of *Chilo suppressalis*

A：淡黄色 Light yellow；B：白色 White. PS5－7：分别为第 5－7 段非角质化区 Primary segments 5－7，respectively.

级存在显著影响($P\leq0.002$)(图 6)。0 日龄雄蛾附腺内含物等级均高于其余日龄,其中基半部内含物等级与 4－6 日龄差异显著($P\leq0.004$),端半部内含物等级与 2－6 日龄差异显著($P\leq0.046$);羽化后 6 d 雄蛾附腺基半部内含物等级显著低于 1－3 日龄($P\leq0.014$)(图 6：A)。另外 6 日龄雄蛾附腺

基半部内含物等级差显著低于端半部($P=0.008$)(图 6：A)。0 日龄雄蛾第 3 和 4 段非角质化区内含物等级显著高于其余日龄($P\leq0.007$),1 日龄雄蛾第 4 段非角质化区内含物等级显著高于 6 日龄($P=0.023$)(图 6：B)。日龄对输精管、储精囊、复射精管和第 1, 2, 5, 6 和 7 段非角质化区内含物等级不存在显著影响($P\geq0.136$)。

解剖的 10～17 头 0－6 日龄雄蛾中,分别有 5.9%, 11.8%, 26.0%, 26.7%, 33.3%, 50.0% 和 50.0% 第 7 段非角质化区内含物为未充满状态,分别有 5.9%, 0, 13.3%, 26.7%, 33.3%, 50.0% 和 40.0% 第 5 段非角质化区内含物为未充满状态,分别有 5.9%, 11.8%, 33.3%, 40.0%, 46.7%, 60.0% 和 70.0% 第 5 或 7 段非角质化区内含物为未充满状态,分别有 5.9%, 5.9%, 6.6%, 6.6%, 6.6%, 20.0% 和 50.0% 内含物为黄色。

通过解剖田间性信息素诱集雄蛾,发现诱集雄蛾附腺内含物等级高于 2－6 日龄未交配雄蛾,其中基半部内含物等级显著高于 4－6 日龄未交配二化螟($P\leq0.014$),端半部内含物等级显著高于 2－6 日龄未交配雄蛾($P\leq0.011$)(图 6：A)。第 3 和 4 段非角质化区内含物等级显著小于 0 日龄雄蛾($P\leq0.001$),和其余日龄雄蛾内容物等级差异不显著(图 6：B)。输精管、储精囊、复射精管和第 1, 2, 5,

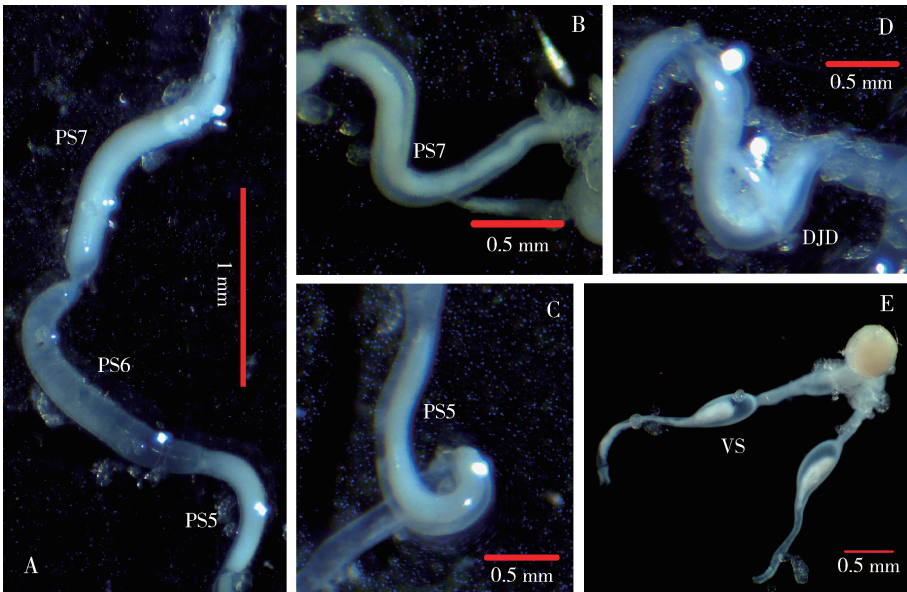


图 5 二化螟雄蛾生殖器内含物填充状态

Fig. 5 Filling status of the genital contents in male adults of *Chilo suppressalis*

A：非角质化区第 5 和 7 段,内含物为充满状态 Primary segments 5 and 7 fully filled with contents；B－E：生殖器内含物为未充满状态 Genital duct not fully filled with contents. PS7：非角质化区第 7 段 Primary segment 7；PS5：非角质化区第 5 段 Primary segment 5；DJD：复射精管 Ductus ejaculatorius duplexes；VS：储精囊 Vesiculae seminales.

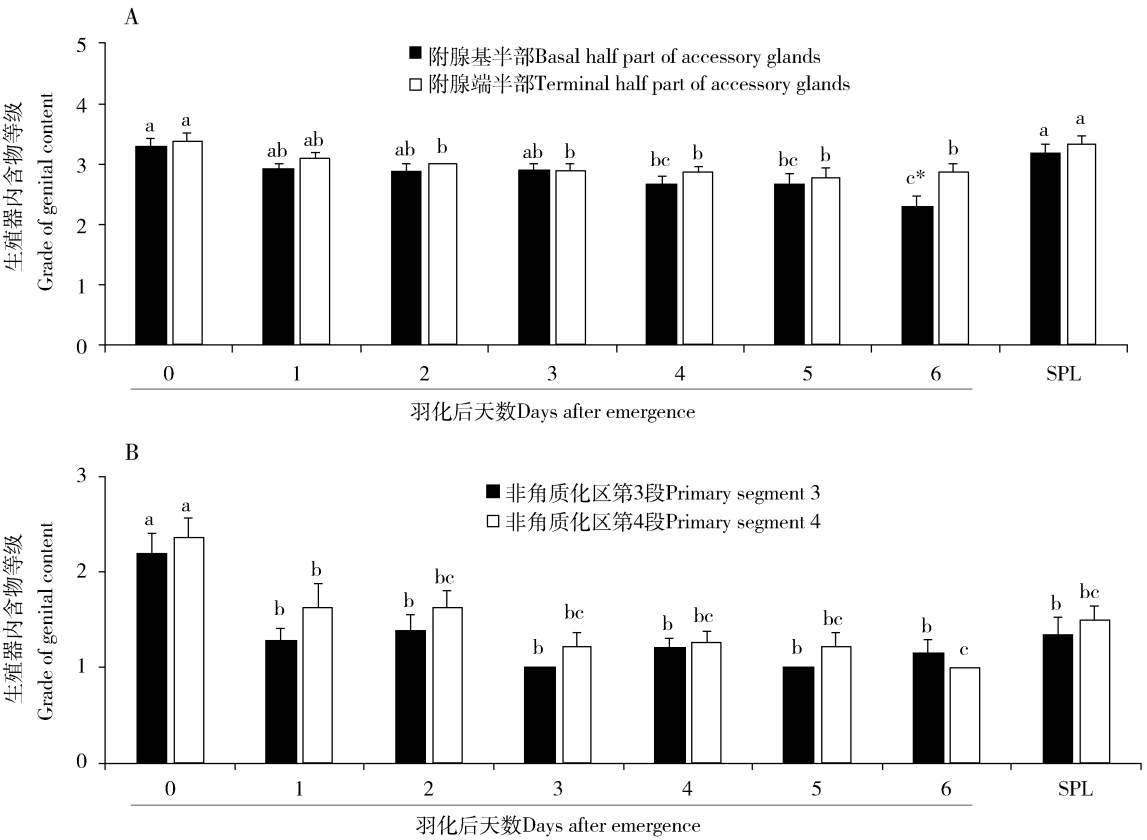


图6 性诱剂诱集二化螟雄蛾与不同日龄未交配雄蛾生殖器内含物等级比较
Fig. 6 Comparison of the grades of genital contents between male moths of *Chilo suppressalis* attracted by sex pheromone and unmated male moths of different day-old

A: 附腺端半部和基半部 Terminal and basal parts of accessory glands; B: 非角质化区第3、4段 Primary segments 3 and 4. 附腺基半部和端半部内含物等级比较采用 Student 氏 *T* 检验,柱上星号表示附腺基半部和端半部内含物等级差异显著 ($P < 0.05$);同一组织不同日龄雄蛾及性诱雄蛾生殖器内含物等级比较采用 LSD 法,柱上不同字母表示同一组织不同日龄及性诱雄蛾生殖器内含物等级差异显著 ($P < 0.05$)。Student's *t*-test was used to analyze the significance and the asterisk above bars indicates significant difference in the grade of contents between terminal and basal half parts of accessory glands ($P < 0.05$). LSD method was used to compare the difference in the grades of genital contents in the same tissue of male moths of different day-old and trapped by sex pheromone, and different letters above bars indicate significant difference in the grades of genital contents in male moths of different day-old and attracted by sex pheromone ($P < 0.05$). SPL: 性信息素田间诱集雄蛾 Male moths attracted by sex pheromone in the field.

6 和 7 段非角质化区内含物等级与各日龄未交配雄蛾内容物等级相同。田间性信息素诱集雄蛾中,单射精管第 5 和 7 段内含物未充满的比例分别为 33.3% 和 25.0%,出现第 5 或(和)7 段非角质化区内含物未充满状态的比例为 41.6%,单射精管内含物为白色的比例为 93.4%。

2.4 交配对二化螟雄蛾生殖器内含物的影响

交配后 1 h 之内雄蛾输精管和储精囊内含物几乎无变化,但是内生殖器其余部位的内含物均呈现出酥松状态(3 级)。交配后 1 h 之内雄蛾第 5 和 7 段非角质化区和复射精管的内含物等级均显著低于未交配雄蛾 ($P < 0.001$),附腺和第 6 段非角质化区内含物等级与未交配雄蛾相似,而第 1–4 段非角质化区的内含物等级显著高于未交配雄蛾 ($P < 0.001$) (图 7)。随着交配后时间的增加,已交配雄

蛾生殖器内含物等级逐渐恢复。交配后 12 h,第 1, 5 和 7 段非角质化区,第 2 段非角质化区端部和复射精管内含物等级与未交配雄蛾差异不显著,仅有第 2 段非角质化区其余部位和第 3 和 4 段非角质化区内含物等级仍然显著高于未交配雄蛾 ($P \leq 0.044$) (图 7: D)。交配后 24 h,内含物等级与未交配雄蛾差异不显著 ($P > 0.05$) (图 7: E)。交配后 36 h,雄蛾生殖器内含物等级完全恢复到未交配状态。

到交配后 36 h,一半数量(57.1%)的已交配雄蛾第 5 和 7 段非角质化区内含物出现未充满状态。到交配后 48 h,仍有相同比例的已交配雄蛾第 5 或(和)7 段非角质化区内含物出现未充满状态。对照组未交配雄蛾第 5 或(和)7 段非角质化区内含物出现未充满状态的比例仅为 33.6%。

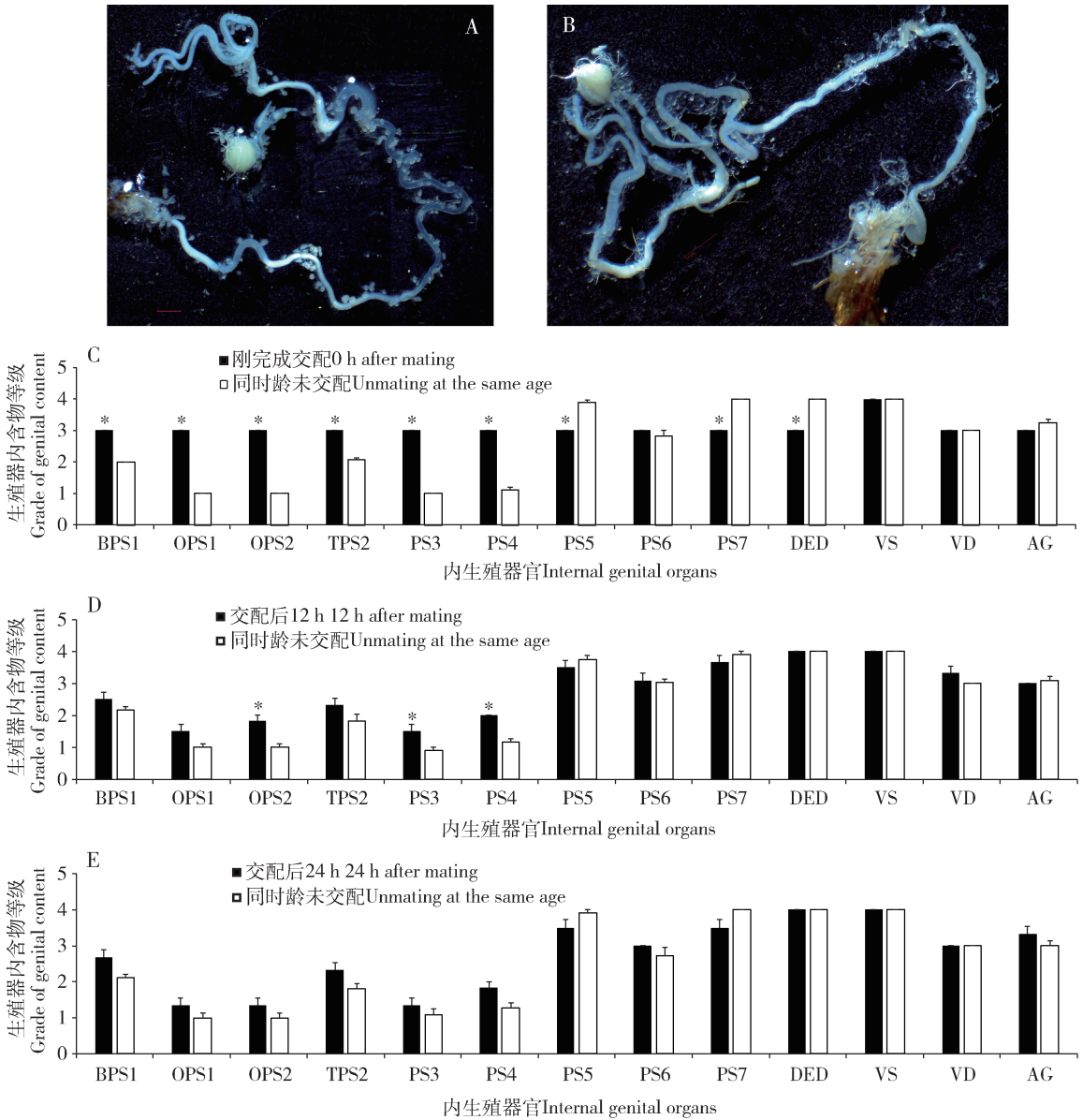


图 7 交配对二化螟雄蛾生殖器内含物等级影响

Fig. 7 Effect of mating on the grades of genital contents in male moths of *Chilo suppressalis*

A: 1 日龄未交配雄蛾内生殖器 Internal genital organs of unmated 1-day-old male moth; B: 1 日龄刚完成交配雄蛾内生殖器 Internal genital organs of the newly mated 1-day-old male moth; C – E: 刚完成交配 (C)、交配后 12 h (D)、交配后 24 h (E) 和同期未交配雄蛾生殖器内含物等级比较 Grades of genital contents in mated and corresponding unmated male moths at 0 (C), 12 (D) and 24 (E) h after mating. 内生殖器名称同图 1 和 3; 不同交配状态生殖器内含物等级比较采用 Student 氏 *t* 检验, 柱上星号表示同一时龄不同交配状态生殖器内含物等级差异显著 ($P < 0.05$). For names of internal genital organs, refer to Figs. 1 and 3. Student's *t*-test was used to analyze the significance, and the asterisk above bars indicates significant difference in the grades of genital contents among different mating statuses at the same time after mating ($P < 0.05$).

2.5 性反应和无性反应二化螟雄蛾生殖器内含物等级比较

解剖发现,室内性诱捕器诱捕到的雄蛾和未进入诱捕器的雄性生殖器内含物等级无显著差异(图 8)。

3 讨论

和大部分蛾类一样,二化螟雄蛾内生殖系统由

一个精巢、一对输精管、一对附腺、一对复射精管和一条单射精管组成。但是二化螟雄蛾内生殖系统的附腺很长,约为内生殖器长度的 1/3,和欧洲玉米螟雄性内生殖系统的短附腺不同 (Hu and Andow, 2009)。蛾类单射精管非角质化区可以根据缢缩分为多段,例如斑蛾 *Zygaena trifolii* 的单射精管分为 6 段 (Fänger and Naumann, 1993), 云杉芽卷蛾 *Choristoneura fumiferana* 的单射精管分为 7 段

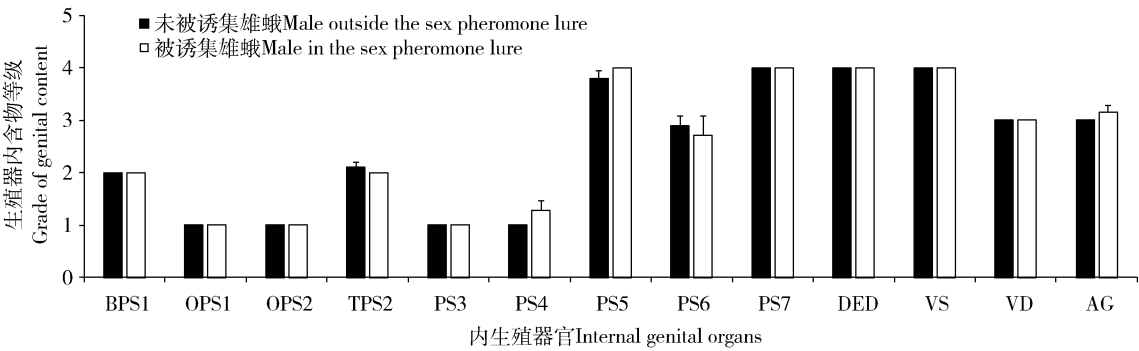


图 8 性信息素诱集和未诱集二化螟雄蛾生殖器内含物等级比较

Fig. 8 Comparison of the grades of genital contents in male moths of *Chilo suppressalis* trapped and untrapped by sex pheromones

(Outram, 1970), 欧洲玉米螟单射精管非角质化区分为 7 段 (Hu and Andow, 2009)。有学者根据内含物结构和缢缩数量将二化螟单射精管非角质化区分为 8 段 (宋俊元等, 2012)。本研究通过解剖不同日龄二化螟雄蛾内生殖系统, 发现单射精管非角质化区上仅有 6 处稳定的缢缩, 结合内含物的形态差异, 将单射精管非角质化区分为 7 段。同时发现第 1 和 2 段非角质化区和附腺内的内含物等级存在差异, 分别将这些部位再次细分为基部和端部等。

羽化日龄并不影响欧洲玉米螟雄性生殖系统的颜色 (Hu and Andow, 2009), 也不明显影响未交配梨小食心虫雄蛾生殖系统的形态特征 (Zhang *et al.*, 2017)。本研究发现, 二化螟雄蛾内生殖系统中附腺和第 3 和 4 段非角质化区内含物等级随着日龄的增加而逐渐降低, 第 5、7 段非角质化区内含物出现未充满状态的比例逐渐升高, 5–6 日龄二化螟单射精管内含物为白色的比例明显下降, 表明日龄对二化螟雄蛾内生殖系统存在明显影响。

精巢产生精子, 成熟的精子通过输精管储存在储精囊中, 交配发生时, 储精囊中的精子通过射精管进入雌蛾体内 (Osanai *et al.*, 1987)。但是二化螟雄蛾交配后, 输精管和储精囊内含物无明显变化, 说明并没有大量的输精管和储精囊内含物参与交配。这可能是由于交配过程中射精的精子体积较小, 并不能明显影响储精囊和输精管的内含物; 也可能是由于除了储精囊外, 二化螟精子还储存在复射精管等其他部位中。研究发现烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* (Henneberry and Clayton, 1984; Proshold, 1991) 和墨西哥稻螟 *Eorellma loftini* (Spurgeon *et al.*, 1994) 的复射精管内存在大量精子。本研究中, 交配二化螟复射精管内含物等级显著低于未交配雄蛾, 说明复射精管内含物确实参与了交配过程。附腺分泌精

液, 保证精子达到雌蛾受精囊前有足够的营养和合适的环境 (Baker *et al.*, 2003)。交配发生后, 二化螟雄蛾附腺内含物呈现酥松状态, 说明附腺内含物确实参与了交配过程, 但是交配和未交配雄蛾附腺内含物的等级差异不显著, 这可能是由于二化螟附腺很长, 内含物很多, 单次交配仅耗费了较少的附腺内含物。雌雄蛾交配时, 雄蛾常常在雌蛾体内形成精包, 单射精管内含物参与了精包形成 (Fänger and Naumann, 1993)。交配成功后, 二化螟第 5 和 7 段非角质化区内含物等级显著低于未交配雄蛾, 这两个区域的内含物可能参与了二化螟精包的形成。交配时, 精子、精液和其余物质通过单射精管排入雌虫体内, 因此交配后 1 h 之内二化螟单射精管内还残留了精子等物质, 导致第 1–4 段非角质化区内含物等级显著高于未交配雄蛾。但是对性信息素产生反应的二化螟雄蛾生殖器内含物等级与无反应雄蛾几乎无差异。

由于交配影响了雄蛾生殖系统的形态特征, 因此很多学者利用这些特征来判定雄蛾的交配状态。例如可以根据复射精管中精子数量来确定烟芽夜蛾雄蛾的交配状态 (Henneberry and Clayton, 1984; Proshold, 1991), 利用复射精管的颜色来区别墨西哥稻螟雄蛾的交配状态 (Spurgeon *et al.*, 1994), 根据单射精管角质化区填充物的有无来判定梨小食心虫雄蛾的交配状态 (Zhang *et al.*, 2017), 利用射精管的颜色区别沙棘木蠹蛾 *Holcocerus hippophaecolus* 雄蛾的交配状态 (周娇等, 2012), 利用单射精管第 7 段颜色和内含物前后两端的空隙 (gap) 区别欧洲玉米螟雄蛾的交配状态 (Hu and Andow, 2009), 根据单射精管第 7 段黄色内含物的有无判定云杉芽卷蛾 *Choristoneura fumiferana* (Bergh and Seabrook, 1986) 和蔷薇斜条卷叶蛾 *Choristoneura rosaceana*

(Evenden *et al.*, 2003) 雄蛾的交配状态。有研究指出二化螟的交配状态可以根据单射精管第 8 段内含物的颜色来确定, 因为未交配二化螟内含物为均匀分布的白色, 交配后 0–2 h 二化螟内含物透明 (Hu *et al.*, 2018)。本研究发现, 交配确实显著影响了二化螟单射精管和复射精管内含物的形态, 交配后 1 h 之内雄蛾第 5 和 7 段非角质化区和复射精管内含物等级均显著低于未交配雄蛾, 而第 1–4 段非角质化区内含物等级均显著高于未交配雄蛾。交配后 12 h, 虽然第 1, 5 和 7 段非角质化区和复射精管内含物等级与未交配雄蛾差异不显著, 但是第 3 和 4 段非角质化区内含物等级仍然显著高于未交配雄蛾。交配后 24 h, 二化螟雄蛾生殖器内含物等级和未交配雄蛾均无显著差异, 因此可以利用内含物等级, 尤其是第 3–4 段非角质化区内含物等级来确定二化螟的交配状态, 但是这种鉴别仅限于交配 12 h 内的已交配和未交配雄蛾。其他蛾类昆虫研究结果也证实了交配后雄蛾内生殖系统的快速恢复。雄性梨小食心虫单射精管角质化区的形态特征在交配后 18 h 就能够恢复 (Zhang *et al.*, 2017), 烟芽夜蛾交配后 5 h 其复射精管中重新充满精子 (Henneberry and Clayton, 1984; Proshold, 1991), 墨西哥稻螟复射精管颜色在交配后 16 h 时恢复为半白色 (Spurgeon *et al.*, 1994), 欧洲玉米螟雄性第 7 段在交配 20–22 h 后恢复为 3 级 (Hu and Andow, 2009)。二化螟交配后雄蛾内生殖系统的快速恢复可能和雄蛾的多次交配习性有关, 二化螟雄蛾一生平均可以交配 2.72 次 (焦晓国等, 2006)。

有研究还指出, 交配后二化螟单射精管内含物并不能完全充满第 8 段, 同时内含物分布不均匀, 可以用于区别交配和未交配雄蛾 (Hu *et al.*, 2018)。本研究发现, 多于一半 (57.1%) 的交配二化螟雄蛾在交配后 36–48 h, 其第 5 和 7 段非角质化区内含物表现出未充满状态。我们同时也发现, 未交配二化螟第 5 和 7 段非角质化区内含物也出现了未充满状态, 不同日龄出现未充满状态的比例差异较大, 例如 0 和 3 日龄未交配二化螟的比例分别为 5.9% 和 40.0%, 因此不能利用第 5 和 7 段非角质化区内含物的充满状态来准确判断二化螟雄蛾的交配状态。

性信息素群集诱杀已经成为二化螟防控的重要措施, 有学者通过二化螟单射精管第 8 段内含物的颜色和充满状态, 判定二化螟性信息素诱集的雄蛾中绝大部分 (85%) 已经交配 (Hu *et al.*, 2018)。根据前面的分析, 我们可以明确, 由于交配后的快速恢

复, 利用单射精管第 7 段内含物等级仅能鉴定交配后 12 h 内的已交配和未交配二化螟雄蛾。性信息素诱集发生在交配后 24 h 或者时间更长, 并不能利用单射精管第 7 段内含物等级来准确鉴定性信息素诱集雄蛾的交配状态。另外二化螟单射精管内含物的充满状态不仅受到交配的影响, 也受到日龄的影响。本研究发现, 田间性信息素诱集二化螟雄蛾附腺端半部内含物等级显著高于 2–6 日龄未交配雄蛾, 第 3 和 4 段非角质化区内含物等级显著小于 0 日龄雄蛾。这些结果表明田间性信息素诱集的二化螟雄蛾中 1 日龄雄蛾的比例较大, 同时也包含了部分 0 日龄雄蛾。虽然交配后 24 h, 已交配雄蛾生殖器内含物等级和未交配雄蛾无显著差异, 但是直到交配后 36 h, 二化螟雄蛾生殖器内含物等级才恢复到未交配状态。二化螟雄蛾的平均寿命为 7.1 d, 其一生平均交配 2.72 次 (焦晓国等, 2006), 绝大部分二化螟雄蛾交配后需要恢复 2–3 d 才能第 2 次交配, 因此雄蛾内生殖系统的恢复并不表明二化螟雄蛾就可以进行再次交配。二化螟雄蛾在羽化当晚的交配率仅为 40% (Kanno and Sato, 1978), 因此田间性信息素诱集的 1 日龄二化螟雄蛾中绝大部分未交配, 证明田间性信息素群集诱杀二化螟是有效的。我们关于性诱剂诱集二化螟雄蛾交配状态的研究结果和前人不同, 这可能是由于使用的性信息素诱捕中配方的引诱力和诱捕器的诱捕效率不同造成的。早先报道的研究结果基于早期的天然橡胶诱芯和水盆诱捕器 (Hu *et al.*, 2018), 我们目前采用的则是 PVC 毛细管诱芯和新型飞蛾诱捕器, 后者在信息素化合物配比、剂量和诱捕器设计等方面都有极大的改善, 引诱力更强, 诱捕效率更高。田间性信息素诱集到的二化螟雄蛾第 5 和 7 段非角质化区内含物未充满的比例为 41.6%, 高于羽化后 2 d 未交配雄蛾 (33.3%), 表明性信息素确实也诱集到了部分已交配雄蛾或者日龄较大的未交配雄蛾。

参考文献 (References)

- Baker RH, Denniff M, Futerman P, Fowler K, Pomiankowski A, Chapman T, 2003. Accessory gland size influences time to sexual maturity and mating frequency in the stalk-eyed fly, *Cyrtodiopsis dalmanni*. *Behav. Ecol.*, 14(5): 607–611.
- Bergh JC, Seabrook WD, 1986. A simple technique for indexing the mating status of male spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.*, 118(1): 37–41.
- Du YJ, Guo R, Han QR, 2013. The application of insect sex pheromone to control the rice stem borer and the rice leaf roller. *China Plant*

- Prot.*, 33(11): 40–42, 39. [杜永均, 郭荣, 韩清瑞, 2013. 利用昆虫性信息素防治水稻二化螟和稻纵卷叶螟应用技术. 中国植保导刊, 33(11): 40–42, 39]
- Evenden ME, Delury L, Judd G, Borden J, 2003. Assessing the mating status of male obliquebanded leafrollers *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) by dissection of male and female moths. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 96(3): 217–224.
- Fänger H, Naumann CM, 1993. Correlation between the Mesodermal male genital ducts and the spermatophore structure in a ditrysian moth, *Zygaena trifolii* (Esper, 1783) (Insecta, Lepidoptera, Zygaenidae). *Acta Zool. (Stockh.)*, 74(3): 239–246.
- Feng B, Guo QS, Zhu F, Wang X, Liu WC, Jiang YY, Zhong L, Du YJ, 2017. Ovarian development and synthetic sex pheromone lure trapping of adults of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomol. Sin.*, 60(2): 211–221. [冯波, 郭前爽, 朱凤, 王笑, 刘万才, 姜玉英, 钟玲, 杜永均, 2017. 迁飞性害虫稻纵卷叶螟成虫的卵巢发育与性诱剂诱捕. 昆虫学报, 60(2): 211–221]
- Henneberry TJ, Clayton TE, 1984. Time of emergence, mating, sperm movement, and transfer of ejaculatory duct secretory fluid by *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) under reversed light-dark cycle laboratory conditions. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 77(3): 301–305.
- Hou M, Sheng C, 1999. Fecundity and longevity of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): effects of multiple mating. *J. Econ. Entomol.*, 92(3): 569–573.
- Hu Y, Andow DA, 2009. A technique for distinguishing virgin and mated males of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae). *J. Entomol. Sci.*, 44(3): 264–275.
- Hu Y, Dai C, He J, Zhu J, Zheng Y, Fu Q, 2018. A technique for determining the mating status of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae) males. *J. Entomol. Sci.*, 53(1): 11–16.
- Jiao X, Xuan W, Sheng C, 2006. Effects of delayed mating and male mating history on longevity and reproductive performance of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker) (Lep., Pyralidae). *J. Appl. Entomol.*, 130(2): 108–112.
- Jiao XG, Xuan WJ, Sheng CF, 2006. Mating behavior of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *Acta Ecol. Sin.*, 26(4): 1110–1115. [焦晓国, 宣维健, 盛承发, 2006. 水稻二化螟的交配行为. 生态学报, 26(4): 1110–1115]
- Kanno H, Sato A, 1978. Mating behavior of the rice stem borer moth, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae): I. Effects of moth age on mating activity. *Appl. Entomol. Zool.*, 13(3): 215–221.
- LaMunyon CW, Eisner T, 1994. Spermatophore size as determinant of paternity in an arctiid moth (*Uteheisa ornatrix*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91(15): 7081–7084.
- Lei YY, Wei CX, He YR, Lan HX, Wen LK, Hu YH, Yang DZ, 2009. Utilization of sweet corn grain in mass-rearing experimental populations of the striped stem borer, *Chilo suppressalis*. *Chin. Bull. Entomol.*, 46(5): 795–798. [雷妍圆, 韦秉兴, 何余容, 蓝海讯, 温丽葵, 胡艳红, 杨东制, 2009. 用甜玉米粒饲养二化螟实验种群. 昆虫知识, 46(5): 795–798]
- Osana M, Aigaki T, Kasuga H, 1987. Energy metabolism in the spermatophore of the silkworm, *Bombyx mori*, associated with accumulation of alanine derived from arginine. *Insect Biochem.*, 17(1): 71–75.
- Outram I, 1970. Morphology and histology of the reproductive system of the male spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Can. Entomol.*, 102(4): 404–414.
- Proshold IF, 1991. Number of sperm bundles in the duplex of tobacco bud worms (Lepidoptera: Noctuidae) as a function of age. *J. Econ. Entomol.*, 84(5): 1485–1491.
- Song JY, Hu Y, Fu Q, Zheng YL, 2012. Study on the anatomy of the male reproductive system of *Chilo suppressalis*. *J. Zhejiang Agric. Sci.*, (5): 686–688. [宋俊元, 胡阳, 傅强, 郑永利, 2012. 二化螟雄虫内生生殖系统结构的解剖. 浙江农业科学, (5): 686–688]
- Spurgeon DW, Raulston JR, Lingren PD, Shaver TN, Proshold IF, Gillespie JM, 1994. Temporal aspects of sperm transfer and spermatophore condition in Mexican rice borers (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 87(2): 371–376.
- Sun LJ, Dai HG, Yi WX, Lu YQ, 2002. The adult emergence rhythm and mating rhythm of rice host population and water-oats host population of the rice stem borer. *Entomol. Knowl.*, 39(6): 421–423. [孙丽娟, 戴华国, 衣维贤, 陆永钦, 2002. 二化螟水稻类群与茭白类群成虫羽化节律和交配节律研究. 昆虫知识, 39(6): 421–423]
- Wang LP, Ji BZ, Liu SW, Zhao ZP, Yang JJ, Zhang XW, Ding F, Wang YZ, 2015. Study of the reproductive system and ovarian development of *Dioryctria rubella* Hampson. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 52(4): 844–853. [王丽平, 嵇保中, 刘曙雯, 赵正萍, 杨锦锦, 张新慰, 丁芳, 王亚召, 2015. 微红梢斑螟生殖系统及卵巢发育特征研究. 应用昆虫学报, 52(4): 844–853]
- Zhang Z, Men L, Peng Y, Li J, Deng A, Chen Y, Liu X, Ma R, 2017. Morphological differences of the reproductive system could be used to predict the optimum *Grapholita molesta* (Busck) control period. *Sci. Rep.*, 7(1): 8198.
- Zhou J, Li J, Weng Q, Luo YQ, 2012. Morphological and histological observations on the reproductive system of *Holcocerus hippophaecolus*. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 49(6): 1629–1635. [周娇, 李娟, 翁强, 骆有庆, 2012. 沙棘木蠹蛾生殖系统形态学和组织学观察. 应用昆虫学报, 49(6): 1629–1635]
- Zuo W, Zhu ZJ, Zhu ZR, Du YJ, Chen C, Cheng JA, 2008. An efficiency comparison of several trapping equipments baited with sex pheromone for capturing male moths of rice striped stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *J. Nucl. Agr. Sci.*, 22(2): 238–241, 237. [左文, 巩中军, 祝增荣, 杜永均, 陈灿, 程家安, 2008. 水稻二化螟性信息素和诱捕器组合的田间诱蛾效果比较. 核农学报, 22(2): 238–241, 237]